中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 48(4) 42～51 (1999)

彩虹鳥蕉組織培養之研究

III. Cefotaxime和植物生長調節劑對莖頂培植體生育之影響[1]

蕭翌柱[2] 王才義[3] 蔡新聲[2]

摘要：本研究目的在探討cefotaxime抗生素預處理彩虹鳥蕉(*Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa)莖頂培植體對降低細菌污染及生育的影響，並探討以組織培養大量繁殖種苗的可行性。結果顯示，莖頂培植體接種於含MS基本鹽類並添加500 mg/l cefotaxime的液體培養基預培養3天後，再繼代培養於固體培養基，對降低細菌污染有顯著的效果，且不會對莖頂組織造成傷害。培植體培養於含MS基本鹽類並添加4-8 mg/l BA和0.5 mg/l NAA的培養基45天後，對促進新莖節萌發效果良好；而接種於含0.01-0.5 mg/l TDZ固體培養之莖頂培植體，也顯示有促進莖節快速生長的作用。另外，本試驗也探討不同的培養方式對彩虹鳥蕉新芽莖頂生育之影響，並獲得初步成果。

關鍵詞：Cefotaxime、Thidiazuron、彩虹鳥蕉、離體培養。

前　　言

彩虹鳥蕉為赫蕉屬(*Heliconia*)植物，學名為*H. psittacorum* cv. Rhizomatosa，目前台灣較具栽培規模之赫蕉屬切花除彩虹鳥蕉外，另有紅鳥蕉(*H. psittacorum* cv. Rubra)以及黃鸝鳥蕉(*H. psittacorum* cv. Golden Torch)。據1988年坊間出版之園藝圖書登錄介紹(4)，這三個品種引入台灣種植的時間應僅十餘年，但隨著經濟快速發展，國人生活水準也大幅提升，近年來此種花色多變且苞片豔麗、吸水性良好的切花材料，正逐漸受到關注與喜愛，更因形狀酷似天堂鳥花，故又有”小天堂鳥”的稱號。現今以屏東地區栽培較多(3)，但在中部試驗田區也能生育良好，尚未發現嚴重病虫危害且幾乎全年開花。

雖然此種熱帶花卉營養繁殖不難，但因具有假莖及如船形之苞片構造，易使植株內外滋生或潛藏各種害虫和菌類，在種苗或切花產品出口時引起檢疫困擾。例如，日本地區對於輸入的農業產品採取嚴格檢疫制度，依其植物保護法規定，進口植物不能帶有泥土，且凡是出口到日本的花卉必需具有由出口國家簽證的植物衛生檢驗證明文件，一旦發現有病原菌或虫害，必須由進口承銷商負責消毒、銷毀或退回(1)。美國夏威夷地區收集選育的赫蕉屬植物大多利用地下根莖萌生之新芽進行分株繁殖，因此曾在赫蕉類植株上檢驗出青枯病菌(*Pseudomonas solanacearum*(Smith))而被拒絕進口(19)。為求台灣花卉產品能順利行銷國際市場，利用組織培養大量繁殖健康種苗應是值得研究的目標。

目前國內外從事赫蕉屬植物組織培養的研究尚不多見，相關文獻也以各栽培品種在植物學、生態

1.行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 1999 號。本文為第一作者碩士論文之一部份。

2.本所農藝系助理、研究員。台灣省 台中縣 霧峰鄉。

3.國立中興大學園藝學系副教授。台灣省 台中市。

學或形態學方面的描述較多，蕭等[5,6]曾檢定出引起赫蕉培植體污染之細菌種類，並提出一些防治污染的方法；本試驗則以彩虹鳥蕉莖頂培植體爲材料，繼續進行組織培養研究，期能將研究成果應用於繁殖其它赫蕉屬植物種苗；在遠程目標方面更可藉由高劑量2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D)、Ethyl methanesulphonate(EMS)藥劑處理分生組織或γ射線照射等誘變技術，進行新花色或新品種選育。

材料與方法

一、材料來源

試驗使用之彩虹鳥蕉材料，爲八十五年底自屏東地區收集的切花品種，定植於試驗田區及溫室苗床栽培後，生長良好可供作試驗之用。

在切取長約0.5-2公分左右的根莖新芽前，須先將植株連根掘起，經自來水沖洗乾淨後，用整枝剪自假莖中段剪斷去除葉片，其次將附著於根莖基部處枯死或腐爛的葉片基部及根系清除，只保留含根莖基部在內長約30-40公分的莖段。此種莖段經浸漬於含免賴得殺菌劑(Benlate, 含benomyl有效成份50%, 杜邦出品) 1000 mg/l水溶液2小時後，取出晾乾再直立排列於60cm ×42cm ×24cm塑膠籃內，莖基處覆以滅菌過的樹皮碎塊：發泡煉石(1：1, v/v)保濕，經3-4星期後根莖基部重新萌發側芽，以刀片切取供作試驗材料。

二、消毒方法與培養基配製

(一)消毒與殺菌

材料取得後，外部先以70％酒精溶液浸漬30-60秒或用酒精棉擦拭處理，再以市售之漂白水(Clorox,含5.25％有效成分)配製成含次氯酸鈉0.5％水溶液浸漬消毒15分鐘，殺菌液中添加數滴展著劑Tween 20(Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate)以增加殺菌效率。

(二)培養基的配製

本試驗使用之培養基含MS(Murashige and Skoog, 1962)基本鹽類，並添加150 ml/l椰子汁(coconut milk, CM)、80 mg/l腺嘌呤(adenine)、170 mg/l NaH_2PO_4、3％蔗糖。並依試驗所需加入cefotaxime抗生素和植物生長調節劑(plant growth regulator, PGR)。植物生長調節劑的種類有(α-Naphthaleneacetic acid(NAA)、Benzylaminopurine(BA)及Thidiazuron(TDZ)等，這些藥品均事先配製成100-200 mg/l的母液，再依所需濃度稀釋之。

培養基調配完成後在添加凝膠物質前，先以0.5-1N NaOH或0.5N HCl調整酸鹼值(pH)，液體培養基之pH值爲5.2±0.1，固體培養基之pH值則爲5.7±0.1。培養基有固態及液態二種，欲配製固態者，需於液體培養基內另外添加0.9％ Difco agar，經煮沸融化後在每支內徑2.2cm的試管中分裝10ml。培養基分裝完成後置於殺菌釜內以溫度121℃、壓力1.05 kg/cm^{2}滅菌15分鐘後，取出放冷備用。

三、試驗方法

(一)Cefotaxime預處理對降低培植體受細菌污染之影響

1.根莖新芽培植體經外部消毒後，依序去除外覆鱗片葉取得莖頂組織並分別接種於含0、25、50、100及500 mg/l cefotaxime之液體培養基震盪培養3天後，再繼代培養於含相同組成份但不含抗生素之固體培養基。

2.每一處理重覆三次，每次各接種5支試管，每支試管接種1個培植體。培植體培養21天後，調查細菌污染的情形並記錄生育狀況。

(二)培養基添加BA與NAA對莖頂培植體生育之影響

1.根莖新芽培植體經外部消毒後，置於無菌操作台上用無菌水清洗三次，再將培植體依蕭等(6)提出之二次消毒技術進行處理，在取得莖頂組織後，分別培養於如表2所示之固體培養基45天，再繼代培養於含相同組成分之液體培養基45天，並調查莖節及根系生育的情形。

2.每一種處理重覆二次；根莖新芽每次各接種5支試管，每支試管接種1個培植體。

(三)培養基添加TDZ對莖頂培植體生育之影響

1.根莖新芽依前一項試驗所述方法處理後取得莖頂培植體，再全程培養於含0、0.01、0.05、0.1、0.5及1.0 mg/l TDZ之液體或固體培養基。

2.每一種處理各接種10支試管，每支試管接種1個培植體。培植體培養90天後調查培植體生育情形。

(四)不同培養方式對莖頂培植體生育之影響

1.根莖新芽依前一項試驗所述之方法處理並取得莖頂培植體後，分別培養於含8 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA或含0.01 mg/l TDZ之培養基。

2.培養方式分爲三種，分別爲L-L：以液體培養基培養45天後，再繼代於液體培養基45天；S-S：以固體培養基培養45天後，再繼代於固體培養基45天和S-L：先以固體培養基培養45天，再繼代培養於液體培養基45天。

3. 每一種處理樣本數皆與第三項試驗相同。

以上試驗之調查結果，係採用二項分佈(binomial distribution) 95%信賴區間(confidence limits)檢定處理間之差異；或以least significant difference(LSD5%) test 檢定之。上述各項試驗中培植體置於溫度24℃、光照12 hr、光量爲100 $\mu E/m^2 \cdot s$ 及光波長爲350-800 nm 環境下誘導萌生新芽；液體培養則在相同環境下，使用水平迴轉式震盪器以100rpm速率震盪培養。

結　果

一、Cefotaxime預處理對降低莖頂培植體受細菌污染之影響

莖頂培植體在已添加25、50或100 mg/l cefotaxime抗生素之液體培養基震盪培養3天後，再以固體培養基培養21天，結果其污染率分別爲86.7%、73.3%及66.7%，與對照組73.3%之污染率相較並無顯著差異(表1)；但抗生素濃度提高爲500 mg/l時，則污染率降低爲40%，與對照組差異顯著，且經調查也未對培植體造成明顯之傷害導致白化死亡(圖1)。

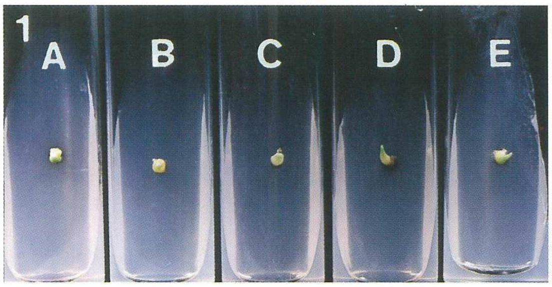
表1. Cefotaxime預處理對降低彩虹鳥蕉莖頂培植體污染之影響[Z]

Table 1. Effect of cefotaxime pretreatment on contamination and growth of shoot tip explants of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa[Z]

Cefotaxime (mg/l)	Contamination (%)	Growth of shoot tip explants (%)
0	73.3a[Y]	100.0a
25	86.7a	93.3a
50	73.3a	100.0a
100	66.7a	100.0a
500	40.0b	86.7a

[Z]Data from three independent experiments, each with 5 shoot tip explants per treatment.

[Y]Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% level by least significant difference (LSD) test.



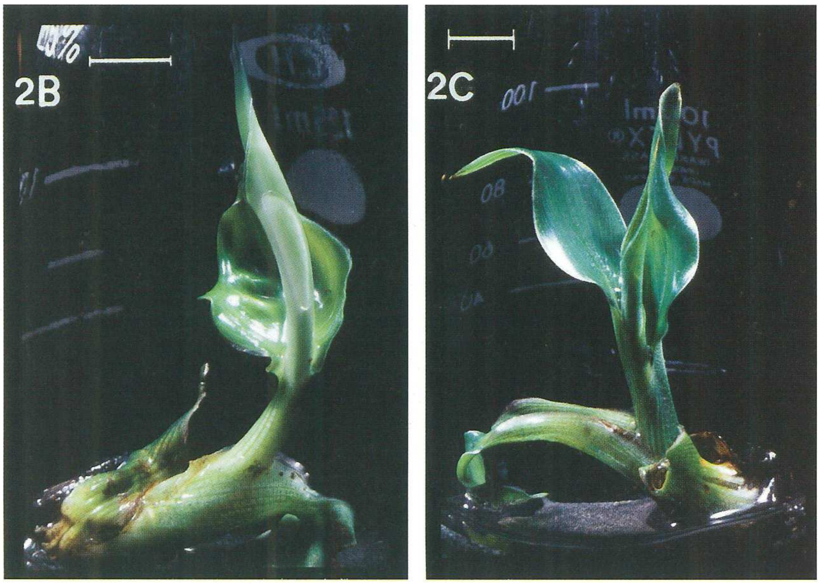


圖1. 不同濃度cefotaxime抗生素預處理彩虹鳥蕉莖頂培植體3天，再繼代培養於含MS基本鹽類並添加2 mg/l BA +0.5 mg/l NAA培養基21天對芽體生育之影響。由A至E分別爲添加0、25、50、100及500 mg/l cefotaxime；圖中cefotaxime使用濃度達500 mg/l的處理組(E)仍未對植物組織產生毒害導致死亡。

Fig.1. Growth promotive effect of cefotaxime pretreatment in shoot tip explants of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa cultured for 21 days on MS basal medium supplemented with 2 mg/l BA +0.5 mg/l NAA. The explants were pretreated for 3 days with (A) 0 mg/l; (B) 25 mg/l; (C) 50 mg/l; (D) 100 mg/l and (E) 500 mg/l. Showed 500 mg/l cefotaxime was not harmful to the explant.

圖2. 含MS基本鹽類並添加不同種類生長調節劑培養基及不同培養方法對莖頂培植體誘導新莖節生長之影響。(A) 0.01 mg/l TDZ固體培養45天；(B) 0.01 mg/l TDZ固體培養45天再以液體培養45天；(C) 8 mg/l BA+0.5 mg/l NAA固體培養45天再以液體培養105天。(比例尺=1 cm)

Fig.2. Effect of culture method and growth regulators (TDZ, BA and NAA) on growth of shoot tip explants of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa. (A) Growth of shoot tip explant after 45 days of culture on agar-solidified MS medium supplemented with 0.01 mg/l TDZ; (B) Growth of shoot tip explant subcultured from agar-solidified MS medium to liquid MS medium supplemented with 0.01 mg/l TDZ. (Shoot tip was incubated for 45 days on solid medium before transfer and incubation for 45 days in liquid medium); (C) Growth of shoot tip explant subcultured from agar-solidified MS medium to liquid MS medium supplemented with 8 mg/l BA+0.5 mg/l NAA. (Shoot tip was incubated for 45 days on agar-solidified MS medium before transfer and incubation for 105 days in liquid medium) (Scale bar=1cm)

二、培養基添加BA與NAA對莖頂培植體生育之影響

表2結果顯示，莖頂培植體先接種於含MS基本鹽類並添加8 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA之固體培養基45天，再繼代培養於液體培養基45天後，約有70％之最高莖節萌生率，另根系萌生的比率僅有20％，平均發根數爲3.0。添加16 mg/l 較高濃度BA＋0.5 mg/l NAA之處理組，僅有20％的莖頂萌生莖節及10％有根系萌生，且幼嫩培植體在培養初期易褐化死亡。培植體培養於添加4 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA之處理組90天後，有50％的莖頂萌生莖節，40％有根系生長，平均發根數爲2.5。分別添加1和2 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA之二個處理組，培養後雖只有10％和20％的莖頂萌生新莖節，但培植體基部萌生根系的比率卻同樣高達70％，且平均發根數分別爲3.7及6.9；培植體如培養於僅含0.5 mg/l NAA之培養基，雖有50％有根系生長，但卻未有新莖節萌生，與對照組10％之莖節萌生率及30％根系生長率比較，差異不顯著。

表2.培養基添加不同濃度BA及NAA對彩虹鳥蕉新芽莖頂生育之影響[Z]
Table 2. Effect of BA concentration in combination with NAA on growth of shoot tip explants of *H psittacorum* cv. Rhizomatosa culture in MS basal medium lmedium [Z]

Plant growth regulator BA (mg/l)	NAA	Growth of shoot tip explants (%)	Root Induction (%)	Average no. of roots /explant
0	0	10b[Y]	30bcd	2.3
0	0.5	0b	50ab	3.4
1	0.5	10b	70a	3.7
2	0.5	20b	70a	6.9
4	0.5	50a	40bc	2.5
8	0.5	70a	20cd	3.0
16	0.5	20b	10d	3.0

[Z]Data from two independent experiments, each with 5 for shoot tip explants per treatment.
Explants were cultured on solid medium for 45 days and then subcultured in liquid medium for 45 days.
[Y]Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5 % level by least significant difference (LSD) test.

三、培養基添加TDZ對莖頂培植體生育之影響

莖頂培植體接種於含0.01-0.1 mg/l TDZ的液體培養基45天後，有40-50％萌生新莖節，高於對照組之20％莖節萌生率(表3)；TDZ濃度如提高爲0.5 mg/l及1.0 mg/l，莖節萌生率反而降至20％及30％。此外，莖頂組織培養於含0.01 mg/l TDZ之固體培養基45天後發現，莖頂培植體全數萌生新莖節，顯著高於對照組之30％莖節萌生率；TDZ濃度如在0.05-0.5 mg/l，莖頂培植體之莖節萌生率也達80-90％；但過高濃度之TDZ(1 mg/l)，則使莖節萌生率下降爲40％。

表3. 液體和固體培養基中添加不同濃度TDZ對彩虹鳥蕉新芽莖頂生育之影響
Table 3. Effect of thidiazuron (TDZ) in liquid and agar-solidified MS basal medium on growth of shoot tipexplants of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa

TDZ (mg/1)	Shoot tips growing after 45days of culture in- Liquid medium		Solid medium(mg/l)	
	% explants growing	95%CL z	% explants growing	95%CL z
0	20	3-56	30	7-65
0.01	50	19-81	100	69-100
0.05	40	12-74	80	44-97
0.10	50	19-81	90	55-100
0.50	20	7-65	80	44-97
1.00	30	7-65	40	12-74

[Z]95 % confidence limits of binomial distribution.

四、不同培養方式對莖頂培植體生育之影響

表4結果顯示，莖頂培植體先以含8 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA之固體培養基培養45天後，再繼代培養於含相同組成份之液體培養基45天(S-L式培養)，新莖節萌生率高達70%，且莖頂組織褐化率僅30%；優於全程使用液體培養(L-L式培養)之30%莖節萌生率與70%褐化率；也優於全程使用固體培養(S-S式培養)之20%莖節萌生率與70%褐化率。若將莖頂培植體培養於含0.01 mg/l TDZ之培養基，再沿用上述三種不同方式進行培養，結果以S-S式及S-L式培養之莖節萌生率分別達到80%及90%，且莖頂組織褐化率僅有20%和10%；優於L-L式培養之40%新莖節萌生率及60% 褐化率。此外，經比較後發現，莖頂培植體接種於含0.01 mg/l TDZ之固體培養基45天後，莖節明顯增長(圖2A)，且將此種培植體再繼代培養於含相同組成份之液體培養基，震盪培養45天後之苗株高度，約與使用含8 mg/l BA＋0.5 mg/l NAA之液體培養基，持續震盪培養105天後所獲得苗株同高，顯示TDZ對促進莖節生長的效果似較使用BA和NAA佳，但前者所培育出的苗株葉色稍淺，而後者葉色較濃綠(圖2B,C)。

表4. 不同培養方式對彩虹鳥蕉新芽莖頂生育之影響

Table 4. Effect of culture method on growth of shoot tip explants of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa

BA	NAA	TDZ	Culture method	Growth of shoot tip explants		Root induction		Browning of shoot tip explants	
	(mg/l)			%	95%CL	%	95%CL	%	95%CL
8	0.5	0	L-L	30	7-65	0	0-31	70	35-93
8	0.5	0	S-L	20	3-56	10	0-45	70	35-93
8	0.5	0	S-L	70	35-93	20	3-56	30	7-65
0	0	0.01	L-L	40	12-74	0	0-31	60	26-88
0	0	0.01	S-S	80	44-97	0	0-31	20	3-56
0	0	0.01	S-L	90	55-100	0	0-31	10	0-45

[Z]L-L：explants were cultured in liquid medium for 45 days and then subcultured in liquid medium for 45 days; S-S explants were cultured on agar-solidifed medium for 45 days and then subcultured on agar-solidifed medium for 45 days; S-L：explants were cultured on solid medium for 45 days and then subcultured in liquid medium for 45 days.

[Y]95 % confidence limits of binomial distribution.

討　論

在植物組織培養研究上常藉由應用無土栽培介質與環境控制之淨化處理或改進消毒與操作技術[5]，甚至使用熱水處理等方法，取得低細菌污染的培植體；此外，也可在培養基內添加各類抗生素或殺菌劑以降低培植體離體培養時各種菌類的污染。例如Arditti等曾報導蝴蝶蘭(*Phalaenopsis*)利用花梗節進行營養繁殖時，於培養基中適量添加50 mg/l gentamycin sulfate或2 g/1 graphite，能有效降低培植體污染[7]。Thomas轉述研究資料認爲，在茶樹及山茶花莖頂組織培養過程中，培植體先以1-4 g/1免賴得和10-50 mg/1 rifampicin處理24小時，可有效降低微生物污染並且無毒害作用[23]。Reed等也曾以timentin(500 mg/1或1000 mg/1)配合streptomycin(1000 mg/1)預處理榛子(*Corylus avellana* L.)三個不同品種的莖頂培植體10天，結果僅有10-15%受到細菌污染[21]。此外，培養基中添加60-100 mg/1 cefotaxime抗生素，不但有不錯的抑菌效果，且能適度刺激大麥和小麥培植體的分化與再生[15,16]；本研究表1得結果有顯示，培植體在接種培養前，先以含500 mg/1 cefotaxime抗生素之液體培養基預培養3天，不但對降低細菌污染有顯著效果，且對植物組織無毒害現象。

在組織培養的過程也常於培養基中添加不同種類及濃度的生長調節制，藉以促進培植體生長與分化，現今使用較頻繁者多屬於auxin類(如IAA, NAA, 2,4-D)和cytoknin類(如BA, kinetin)，據Tsay等研

究，上述兩類生長調節劑組成比例，會影響菸草癒合組織分化能力，當auxin含量較高時，有促進癒合組織形成及發根作用；如cytokinin含量較高時，則促進芽體分化與形成[24]。Vuylsteke和Langhe曾在培養基中添加10 μM BA以促進香蕉不定芽莖定分生組織的增殖，但在誘導莖節再生時則建議降低BA含量至1 μM並配合1 μM IAA[26]。Pedersen和Brandt也在研究赫蕉屬植物*Heliconia psittacorum* cv. Choconiana Dwarf新芽莖頂組織之消毒方法時，使用含MS基本鹽類(鐵鹽除外)另添加38 mg/l NaFe-EDTA、2mg/l BA、1 mg/l IAA 、30 g/l蔗糖及3 g/l Gelrite的培養基，結果培植體生育良好[20]。Nathan等則認爲，*Heliconia psittacorum*莖頂組織培養基組成分除MS基本鹽類外，可再添加0.5 mg/l thiamine-HC1、100 mg/l myoinositol、170 mg/l sodiunm hydrogen phosphate、80 mg/l adenine sulphate、30 g/l sucrosc及150 ml/1 coconut water；在進行初代培養時，BA濃度以40 μM時，莖頂組織無發育現象甚至死亡[19]。本研究則發現，培養基中添加4和8 mg/l BA並配合0.5 mg/l NAA，對莖頂培植體新莖節的萌生有促進作用，但BA濃度降爲1和2 mg/l時，則誘導出較多的根系，但需培養3-4個月後培植體才有較明顯的變化。TDZ約在1982年被報導具有類似於cytokinin的活性，可廣泛應用於不同植物種類誘導不定芽、側芽及新莖節的形成且穩定性高，但使用濃度不宜太高，否則易使芽體發育不正常且發根受阻[10,14]。Visser等曾在培養中添加0.2-1 mg/l TDZ，成功誘導天竺葵種子產生體胚[25]。Eapen等認爲不論在培養基中單獨添加TDZ或是配合IAA，對於木豆(*Cajanus cajan* L.)由初生葉片誘導莖節再生，皆有很高的促進效果；如降低TDZ的使用濃度，則能使新莖節快速生長(9)。然而，至今其促進植物組織生長的機制尙未完全明瞭，據推測可能是以類似於N^6-substituted cytokinins的作用模式，直接促進莖節生長；或是先促成植物組織內生cytokinins的合成及累積，在間接促使生長作用加速[8,17]。表3結果顯示，莖頂培植體培養於添加0.01-0.1 mg/l TDZ之液體培養基45天後，有40-50%產生新莖節；如以固體培養基培養，則TDZ含量在0.01-0.5 mg/l時皆有促進莖節萌生的作用，且莖節萌生率皆達八成以上，但此一試驗除觀察到莖節萌生外，並未發現培植體基部產生根系。高[2]曾歸納整理眾多學者研究報告指出，適當濃度的auxin可促進切離根與完整根之生長，而cytokinins能抑制根之生長，尤其是當根生長於黑暗狀況下時作用更明顯，其原因由於降瞭根內auxin含量的緣故，據此推估，TDZ可能因具有類似於cytokinin的作用，因此對於植物組織的作用多在促進側芽或莖節生長，而非誘導根原體的創始分化；如再觀察比較表2和表3培植體的生長情形也發現，培養基添加低濃度TDZ對促進莖頂組織生育的速率雖較添加BA和NAA者快(如圖2B,C)，但在誘導根系分化的效果方面，前者則未必比後者佳。此外，探討以液體培養基進行初代培養所獲得的莖節萌生率比使用固體培養者低，且褐化率偏高，此可能是切取的莖頂部位在初期培養時，體積僅有2-3 mm^3且仍處於幼嫩狀態，震盪培養時易因碰撞受傷導致褐化死亡。

一般對於植物之組織培養研究，多用固體培養或液體培養二種方式，固體培養適合小培植體的分化與再生，且誘導出的癒合組織不易鬆脫，但是培植體產生的代謝物或分泌物蓄積過多，常導致培植體受到毒害或褐化[11]；液體培養則可擴大培植體吸收養份的表面積，並藉由振盪器輔助培養減低生長極性，加速不定芽或芽球體的分化，增進繁殖倍率，例如Hsu等研究指出，*Bupleurum falcatum*頂芽置於含1 mg/l BA的液體培養基中培養30天後，可得到13倍的繁殖效果[12]。但是，液體培養尙需考慮振盪速率，如速率太慢培植體呈浸水狀態，容易導致缺氧死亡；速率太快，則易使幼嫩培植體碰撞受傷；此外，供給充份的氧氣雖能刺激馬鈴薯塊莖芽體快速生長[13]，但對一些植物如*Chrysanthemum*而言，以液體培養的方式易使芽體腫脹並出現玻璃質化的現象。如以固體和液體培養交互培養，常可維持培植體強盛的生長勢[22]。表4結果也顯示，莖頂培植體先以固體培養45天再繼代培養於液體培養基中，不論培養基使用何種生長調節劑，對於新莖節的萌生皆有明顯的增進作用；持續接種於液體培養基者，莖

頂萌生的新莖節生長勢雖較快，但因初期切取的莖頂部位仍處於幼嫩狀態，易受碰撞褐化死亡；而持續以固體培養基培養，不但莖節生長勢較慢且基部易褐化，雖然莖頂尚能存活，但生長速率顯然低於交互培養者。

本研究利用培植體二次消毒及添加適量抗生素的液體培養基浸漬預處理，有效克服培植體高細菌污染率的困擾，也使彩虹鳥蕉莖頂培養得以施行並獲得初步成果，雖然尚有一些如增加種苗繁殖倍率及縮短種苗繁殖所需時間等問題尚待繼續研究，但本試驗結果對未來發展熱帶花卉產業、建立自主性赫蕉健康種苗繁殖技術及進行新花色或新品種誘變選育之遠期目標應有良好助益。

誌 謝

本研究承國科會經費補助(計畫編號：NSC87-2622-B020-001)，文稿英文部份承A. P. Sagare博士撥冗斧正，謹此致謝。

引用文獻

1.李皇照。1996。日本熱帶花卉市場需求遠景。台灣花卉園藝105：54-58。

2.高景輝。1996。植物生長與分化，初版四印。國立編譯館，台灣，台北。335-338頁。

3.陳麗筠。熱帶花卉種類及產銷概況，13-32頁。柯立祥，陳福旗 編。台灣熱帶花卉產業發展研討會專刊，11月28-30日，1994。國立屏東技術學院印。台灣，屏東。

4.薛聰賢。1988。家庭園藝(臺灣的觀賞花木)。農學社，台灣，台北市。第1輯:49頁; 第7輯:26-27頁; 第40輯:25頁。

5.蕭翌柱、許秀惠、王才義、蔡新聲。1998。彩虹鳥蕉組織培養之研究 I.培植體離體培養污染細菌之檢定及防治。中華農業研究47: 346-363。

6.蕭翌柱、王才義、蔡新聲。1999。彩虹鳥蕉組織培養之研究 II.培植體離體培養細菌污染防治之檢討。興大園藝(刊印中)

7.Arditti, J., Johnson, A., and Perera, R. G. 1981. Culture media which do not require sterilization：*Phalaenopsis* flower stalk nodes. Orchid Rev. 89:49-52.

8.Capelle, S. C., Mok, D. W. S., Kirchner, S. C., and Mok, M. C. 1983. Effects of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N^6-(2-isopentyl)[8-^{14}C] adenosine in callus tissue of *Phaseolus lunatus* L. Plant Physiol. 73:796-802.

9.Eapen, S., Tivarekar, S., and George, L. 1998. Thidiazuron-induced shoot regeneration in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). Plant Cell, Tissue Organ Culture 53:217-220.

10.Fiola, J. A., Hassan, M. A., Swartz, H. J., Bors, R. H., and McNicols, R. 1990. Effect of thidiazuron, light fluence rates and kanamycin on *in vitro* shoot organogenesis from excised *Rubus* cotylendons and leaves. Plant Cell, Tissue Organ Culture 20:223-228.

11.George, E. F. and Sherrington, P. D. 1984. Plant propagation by tissue culture, pp. 125-330. In: George, E. F., and Sherrington, P. D. eds. Handbook and dictionary of commercial laboratories. Eastern Press, Reading, Berks England.

12.Hsu, J. Y., Liu, S. Y. and Tsay, H. S. 1993. Studies on tissue culture of *Bupleurum falcatum* L. cv. Tainung No. 1. Jour. Agric. Res. China 42:245-252.

13.Linus, H. W. and Wagner, M. J. 1986. Effects of oxygen on growth and respiration of potato tuber callus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 7:217-225.

14.Lu, C. Y. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro* Cell. Dev. Biol. 29:92-96.

15.Mathias, R. J. 1987. Cefotaxime:potential regeneration induction switch. Agricell Rep. 8:11.

16.Mathias, R. J. 1988. Antibiotic stimulates growth and differentiation of barley tissue cultures. Agricell Rep. 10:19.

17.Mok, M. C., and Mok, D. W. S. 1985. The metabolism of [^{14}C]-thidiazuron in callus cultures of *Phaseolus lunatus.* Physiol. Plant 65:427-432.

18.Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15:473-497.

19.Nathan, M.J., Goh, C. J., and Kumar, P. P. 1992. *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud ulture. HortScience :450-

452.

20.Pedersen, C. and Brandt, K. 1992. A method for disinfection of underground rhizome tips of *Alstroemeria* and *Heliconia.* Acta Hort. 325:499-504.

21.Reed, B. M., Mentzer, J., Tanprasert, P. and Yu, X. 1998. Internal bacterial contamination of micropropogated hazelnut : identification and antibiotic treatment. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52:67-70.

22.Robb, S. M. 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thun. J. Exp. Bot. 8:348-352.

23.Thomas, R. L. 1987. Control of woody plant culture contaminants. Agricell Rep. 9:38.

24.Tsay, H. S., Gau, T. G. and Chen, C. C. 1989. Rapid clonal propagation of *Pinella ternata* by tissue culture. Plant Cell Rep. 8:450-454.

25.Visser, C., Qureshi, J. A., Gill, R., and Saxena, P. K. 1992. Substitution of auxin and cytokinin requirement for the induction of somatic embryogenesis in geranium hypocotyl cultures. Plant Physiol. 99:1704-1707.

26.Vuylsteke, D. and De Langhe, E. 1985. Feasibilty of *in vitro* propagation of bananas and plantains. Trop. Agric. (Trinidad) 62:323-328.

Studies on Tissue Culture of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa

III. Effect of Cefotaxime and Plant Growth Regulators on Growth of Shoot Tip Explants *in Vitro*[1]

Yih-Juh Shiau[2], Tsai-Yih Wang[3], and Hsin-Sheng Tsay[2]

Summary

This paper describes a method of *in vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa by using terminal shoot tip explants. Various concentrations (25,50,100 and 500 mg/l) of cefotaxime were used in liquid Murashige and Skoog (MS) basal medium to control contamination. Lower rate of contamination was observed in shoot tip explants after pretreatment of explants in liquid MS medium supplemented with 500 mg/l cefotaxime for 3 days. Well developed shoots were successfully obtained after 45 days of culture of shoot tip explants on MS medium supplemented with 4-8 mg/l Benzylaminopurine (BA) and 0.5 mg/l α-Naphthaleneacetic acid (NAA). Addition of 0.01-0.5 mg/l Thidiazuron (TDZ) in the medium was found to be beneficial for rapid growth of shoot tip explants. The effect of various culture methods on growth of shoot tip explants was also studied.

Key words： Cefotaxime, Thidiazuron, *Heliconia psittacorum* cv. Rhizomatosa, *In vitro* culture.

1. Contribution No. 1999 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. This paper is a part of Master thesis of the first author.

2. Respectively Research assistant, Senior agronomist, Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung , Taiwan, ROC.
3. Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.